

НАЗЕМНЫЕ СОЛЯНЫЕ ФИЗИОТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СООРУЖЕНИЯ: САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА

М.В. Кузнецова, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН,*

Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера

М.Г. Маммаева, *ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Удмуртской Республике»*

Л.В. Кириченко, *Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера*

Для цитирования:

Кузнецова М.В., Маммаева М.Г., Кириченко Л.В. Наземные соляные физиотерапевтические сооружения: санитарно-гигиеническая и микробиологическая оценка // Вестник Пермского федерального исследовательского центра. – 2024. – № 2. – С. 15–32. <https://doi.org/10.7242/2658-705X/2024.2.2>

В работе освещены вопросы развития солелитепии, дан обзор результатов микробиологических и санитарно-гигиенических исследований, проведенных *in situ* в различных наземных сооружениях (НСС) Пермского края, а также *in vitro* исследований биологических свойств бактерий рода *Staphylococcus* и их выживаемости при моделировании ограждающих поверхностей сооружений для солелитепии. Сравнительный анализ основных гигиенических параметров соляных сооружений выявил различия между сильвинитовыми и галитовыми палатами, показал зависимость интенсивности лечебных факторов внутренней среды от срока эксплуатации и соблюдения санитарно-гигиенических мероприятий. Изучено разнообразие микробных сообществ наземных соляных сооружений методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии. Доминирующее представительство *Actinomyces*, обитающих на соляных абиотических поверхностях НСС, позволяет предположить, что они являются пулом клеток, «сохраняющим» другие бактерии в жизнеспособном состоянии в условиях высокоминерализованной среды. Выявленные количественные и качественные показатели микробиоты соляных сооружений дополняют представления о структуре микробных сообществ в условиях высокой соляной нагрузки и антропогенного влияния, в том числе по распределению микроорганизмов – присутствию отличительных групп, состоящих из постоянных и транзитных участников экосистемы. Изучение биологических свойств стафилококков, выделенных из НСС, выявило высокий процент устойчивых к макролидам штаммов и гемолитических культур, что указывает на их антропогенное происхождение. Показана высокая толерантность культур к солям натрия и калия, а также к солям тяжелых металлов, различающаяся у представителей разных видов и чувствительных / устойчивых к макролидам культур. Проявление дифференциальной чувствительности стафилококков к изученным факторам может дать дополнительную информацию, необходимую для оценки экологического потенциала этих бактерий, их распространения и

решения проблемы борьбы со стафилококковыми инфекциями. Полученные данные о выживаемости бактерий на соляных поверхностях различных типов, их устойчивости к высоким концентрациям солей ставят вопрос о специальных методах обработки ограждений сооружений для солелите-рапии.

Ключевые слова: наземные соляные сооружения (НСС), гигиенические факторы внутренней среды, бактериальная обсемененность, *Staphylococcus*, выживаемость, устойчивость к антибиотикам и солям тяжелых металлов.

В настоящее время в стратегии охраны здоровья населения большое внимание уделяется вопросам профилактической медицины, в том числе поиску и применению немедикаментозных способов коррекции функциональных изменений физиологических систем человека. К таким методам можно отнести солелите-рапию – физиотерапевтический метод лечения, основанный на положительном влиянии на организм воздуха, содержащего мелкодисперсный соляной аэрозоль. Метод эффективен для профилактики и в комплексном лечении заболеваний верхних дыхательных путей, сердечно-сосудистой системы и кожных покровов, при нервных расстройствах, возбуждении и проблемах со сном из-за стресса [2; 26; 30; 31].

Пребывание пациентов в условиях микроклимата естественных карстовых пещер, горных выработок соляных, калийных рудников относится к спелеотерапии. Альтернатива подземным спелеолечебницам – это моделирование на поверхности естественных лечебных факторов: галокамеры, сильвинитовые микроклиматические палаты [17]. В период проведения сеансов солелите-рапии происходят изменения соотношения лечебных факторов внутренней среды соляных устройств, воздух подвержен микробному загрязнению, источниками которого являются медицинский персонал и пациенты. Интенсивная эксплуатация соляных сооружений формирует накопление антропофильных микробных популяций с измененными свойствами, что способствует сохранению бактерий и их персистенции в условиях повышенной соляной нагрузки.

В работе освещен вопрос развития солелите-рапии, а также дан обзор результатов микробиологических и гигиенических исследований, проведенных нами *in situ* в различных наземных соляных сооружениях (НСС) Пермского края в 2017–2020 гг. Кроме того, представлены данные *in vitro* исследований выживаемости представителей некоторых видов бактерий при моделировании ограждающих поверхностей сооружений для солелите-рапии и проведено изучение биологических свойств этих бактерий.

Становление и развитие спелеотерапии (солелите-рапии)

Большую роль в развитии спелеотерапии в послевоенные годы сыграли немецкий ученый, врач, доктор К. Spannagel (Карл Герман Шпаннагель или Шпаннагель), венгерский инженер, геолог-спелеолог, доктор Н. Kessler (Хуберт Кесслер) и польский врач, профессор М. Skulimowski (Мечислав Скулимовский). Результаты их исследований положили основу современной солелите-рапии [1, 6]. Присутствие сухих соляных аэрозолей, имеющих как определенную концентрацию, так и размер, поддерживает «чистую» атмосферу, то есть свободную от микроорганизмов и аллергенов. По инициативе Н. Kessler в 1969 г. при Международном союзе спелеологии был создан Постоянный комитет спелеотерапии (Permanent Commission on Speleotherapy). В 1950–1960 гг. спелеотерапия официально признана в Венгрии, Германии и Польше в качестве метода лечебного воздействия. Сегодня в мире существует не более 30 подземных санаториев-спелеолечебниц,

например, в Берхтесгадене (Германия), в Солотвино (Украина), в Злате Горах (Чехия), в Величке и Бохне (Польша).

Широкое использование спелеотерапии как лечебного метода во многих странах началось во второй половине XIX века. В 40–50-е годы этот метод начали активно развивать в Германии, Австрии и Италии, а позже, в 60-е годы, спелеотерапия начала применяться в Восточной Европе (Польша, Венгрия, Словакия, Румыния) [4, 6]. Так, в австрийском г. Оберцайринге отработанные штольни рудников использовали для лечения пациентов с заболеваниями верхних дыхательных путей в середине XIX века. После окончания II Мировой войны комплекс «Клутертхолле» («Klutert Höhle»), расположенный в карстовой пещере Клутерт г. Эннепеталь (Германия) стал использоваться в лечебных целях для пациентов, страдающих бронхиальной астмой. Местное население, укрывавшееся там во время бомбардировок, отмечало облегчение симптомов легочных заболеваний, что вскоре было доказано и клиническими исследованиями [6, 8]. В 1958 году в г. Величка, недалеко от Кракова (Польша), в одной из соляных шахт был открыт соляной курорт «Величка» («Wieliczka») для пациентов с респираторными заболеваниями. В уникальном микроклимате подземных камер проводили специальные дыхательные и гимнастические упражнения, а метод «подземной терапии» впоследствии был назван методом Скулимовского [24]. Интересно, что на территории шахты «Величка» добывали и производили поваренную соль с тринадцатого века до 2007 г., а в настоящее время она является одной из главных туристических достопримечательностей Польши, играя роль культурного памятника (с 1978 г. официально внесена в список объектов всемирного наследия ЮНЕСКО) [21]. Еще один известный польский курорт, специализирующийся на лечении заболеваний дыхательных путей (рецидивирующих инфекций верхних и нижних дыхательных путей, аллергического и хронического неаллергического

ринита, астмы и др.) – «Соляная шахта Бохня» («Kopalnia soli Bochnia»). Добыча соли в рудниках г. Турда (Торенбург, Румыния) прекратилась еще в 1932 г. из-за низкого качества технического оснащения и сильной конкуренции со стороны других трансильванских рудников, но «Соляная шахта Турда» («Turda Salt Mine») была заново открыта в 1992 г. для туристического посещения, а также как оздоровительный центр. Кроме того, идут научные исследования по изучению возможного использования в качестве подземных лечебных учреждений соляных шахт «Униря»-Сланич Прахова («Unirea»-Slanic Prahova) и «Качица» (Căcița) [28]. В Беларуси в 1990 г. на базе Старобинского месторождения калийных солей в г. Солигорске, открытого еще в 1949 г., на глубине 420 м создан подземной спелеокомплекс, представляющий отдельное, не связанное с производством, сооружение с обособленной системой проветривания и собственной инфраструктурой [5, 8]. На территории России первые упоминания о применении спелеотерапии в лечебных целях появились в конце XIX столетия. В г. Пятигорске больных в специальных корзинах опускали в подземную пещеру, где они погружались в купальню и одновременно проходили сеансы лечебного дыхания, но систематических исследований лечебного эффекта микроклимата пещер в то время не проводилось. В России единственная спелеолечебница, действовавшая с 1977 г. на Верхнекамском месторождении калийных солей (г. Березники, Пермский край), была закрыта в 2006 г. в связи с аварийной ситуацией на руднике. В литературе представлены фрагментарные сведения о положительном опыте лечения ограниченного контингента больных астмой и хроническим бронхитом в соляной шахте №2 в Соль-Илецке (Оренбургская область) и в пещере Шульган-Таш (г. Уфа) [6].

Моделирование на поверхности условий спелеолечебниц получило широкое распространение ввиду ограниченности количества месторождений калийной соли, возможности затопления и обрушения

породы в рудниках. Сильвинито- и галотерапия основаны на лечении в контролируемой воздушной среде, воссоздающей условия естественных соляных пещер. Для строительства соответствующих сооружений – сильвинитовых и галитовых – используются соли калийно-магниевого месторождения. Сильвинит – осадочная горная соляная порода, представляющая собой совокупность минералов сильвина (KCl), галита (NaCl) и карналлита ($KCl \times MgCl_2 \times 6H_2O$). Галит – кристаллическая форма хлорида натрия и различных примесей. Соли обладают естественной радиоактивностью, за счет присутствующих в минерале природных изотопов калия, радия, тория, которые при распаде испускают α , β частицы и γ лучи [14]. Значимым фактором, определяющим специфику спелеосреды, является ионизация воздуха, благодаря которой происходит образование отрицательных и положительных аэроионов [30].

Развитию спелео-солетерапии на территории Пермского края и РФ способствовали: доцент Пермского политехнического института В.А. Старцев, профессор Пермского государственного медицинского университета, д.м.н. В.Г. Баранников, д.т.н., профессор Г.З. Файнбург, член-корреспондент РАН А.Е. Красноштейн [4, 9, 17]. Первая наземная климатическая камера из калийных соляных блоков построена в 1982 г. в г. Соликамске (Пермский край). На сегодняшний день сильвинитовые микроклиматические палаты, разработанные и запатентованные учеными Пермского государственного медицинского университета, а также галокамеры различных модификаций представлены в большинстве санаториев России и за рубежом [17].

***Санитарно-гигиеническая
оценка наземных соляных
физиотерапевтических
сооружений Пермского края***

Создание оптимальной лечебной среды в НСС обеспечивается совокупностью гигиенических факторов (микроклимат, соляной аэрозоль, ионный состав воздуха,

ионизирующее излучение), которые должны поддерживаться в определенном диапазоне. Предположительно, различия в конструктивных особенностях и составе фракций соляных лечебных поверхностей данных сооружений, а также срок их эксплуатации могут обуславливать интенсивность основных лечебных факторов внутренней среды. Кроме того, на абиотических поверхностях этих сооружений может формироваться специфический микробиоценоз, включающий патогенные / условно-патогенные бактерии, имеющие антропогенное происхождение. Первый этап исследований был посвящен комплексной оценке НСС, включающей определение гигиенических и микробиологических параметров внутренней среды, установление связи между ними и типом, сроком и условиями эксплуатации сооружения.

За период 2017–2018 гг. исследованы 14 объектов, включающих 10 сильвинитовых и 4 галитовых НСС, расположенных в лечебно-профилактических и санаторно-курортных учреждениях Пермского края (рис. 1).

Галокамеры были выполнены методом напыления соляного материала на ограждающие поверхности с его подсыпкой на пол, оснащены устройствами подготовки и кондиционирования воздуха, а также галогенератором для насыщения внутренней среды палаты аэрозолем поваренной соли. Сильвинитовые сооружения состояли из основного помещения, стены, пол и потолок которого выполнены из блоков природных калийных солей. Соляные палаты снабжены фильтром-насытителем и вытяжной вентиляцией. Срок эксплуатации соляных сооружений варьировался от 5 месяцев до 24 лет и в среднем составлял для сильвинитовых – $11,1 \pm 2,8$, для галитовых – $2,6 \pm 1,8$ лет. Гигиеническая оценка комплекса факторов внутренней среды проводилась с помощью сертифицированных приборов по общепринятым гигиеническим методикам. Для изучения микробного пейзажа образцы



Рис. 1. НСС в санаторно-курортных учреждениях Пермского края

проб ($n=91$, не менее шести для каждой камеры) отбирали с соляных поверхностей ($S=0,5 \text{ м}^2$) сухим способом.

В обследуемых сильвинитовых сооружениях уровень радиационного фона составил $0,19 \pm 0,004 \text{ мкЗв/ч}$. Количество легких отрицательных аэроионов – $1043,9 \pm 131,8 \text{ ион/см}^3$, легких положительных аэроионов – $423,8 \pm 90,5 \text{ ион/см}^3$. Коэффициент униполярности, рассчитываемый как отношение положительных аэроионов к отрицательным, для всех исследуемых сильвинитовых сооружений не превышал единицу. Температура воздуха была $21,3 \pm 0,4^\circ\text{C}$, относительная влажность – $36,9 \pm 1,1\%$, температура ограждающих поверхностей – $22,5 \pm 0,3^\circ\text{C}$ (табл. 1). Необходимо отметить, что все факторы данных сооружений находились в пределах допустимых значений в соответствии с НРБ-99/2009, СП 1.2.3685-21.

В галитовых сооружениях радиационный фон находился в пределах $0,08 \pm 0,005 \text{ мкЗв/ч}$. Легкие отрицательные аэроионы составили $143 \pm 4,2 \text{ ион/см}^3$, легкие положительные – $132 \pm 7,8 \text{ ион/см}^3$. Следует отметить, что эти показатели были существенно ниже терапевтического уровня воздействия для данного фактора. В двух галитовых палатах отмечалось

преобладание легких положительных аэроионов над отрицательными, что свидетельствовало о неблагоприятной аэроионизационной обстановке.

При сравнительной оценке физических факторов в наземных соляных сильвинитовых и галитовых сооружениях выявлены статистически значимые различия в показателях радиационного фона ($p=0,00000001$), легких отрицательных аэроионов ($p=0,003$) и влажности воздуха ($p=0,02$). При этом в сильвинитовых сооружениях все гигиенические факторы находились в пределах допустимых значений в соответствии с НРБ-99/2009 и СП 1.2.3685-21, тогда как в галитовых сооружениях показатели радиационного фона, легких отрицательных и положительных аэроионов были существенно ниже терапевтического уровня воздействия для данных факторов.

Известно, что показатели лечебной среды подвержены изменениям во времени [13, 15]. В связи с этим была проведена оценка основных факторов внутренней среды наземных соляных сооружений с учетом сроков их эксплуатации (табл. 2).

Как следует из данных таблицы, концентрация легких отрицательных аэроионов и уровень гамма-излучения достовер-

Таблица 1

Показатели факторов внутренней среды в различных НСС

НСС, №	РФ, мкЗв/ч	ЛОА, ион/см ³	ЛПА, ион/см ³	Температура воздуха, °С	Влажность воздуха, %	Температура ограждений, °С
Сильвинитовые НСС						
1	0,20±0,02	820±85,3	278±17,2	23,0±0,3	34,6±0,7	22,5±0,7
2	0,19±0,01	1533±103,0	490±75,5	18,2±0,4	32,7±1,3	22,6±0,6
3	0,20±0,01	648±94,0	105±8,4	23,4±0,2	21,7±0,5	22,9±0,7
4	0,18±0,02	282±17,2	227±37,3	22,8±0,3	27,3±0,7	24,5±0,6
5	0,19±0,01	1023±277,0	935±226,0	24,5±0,7	42,0±0,5	23,8±0,9
6	0,16±0,02	723±41,0	368±55,0	18,3±0,4	35,5±0,5	18,3±0,6
7	0,20±0,02	1230±176,0	190±39,0	19,3±0,5	45,2±0,9	21,0±0,1
8	0,16±0,02	1520±101,2	670±97,5	20,0±0,3	41,2±0,4	23,3±0,6
9	0,22±0,02	1400±98,6	585±68,4	21,0±0,5	49,0±0,7	21,8±0,4
10	0,21±0,01	1260±99,8	390±41,2	22,3±0,6	39,8±0,3	24,4±0,6
Среднее	0,19±0,004	1043,9±131,8	423,8±90,5	21,3±0,4	36,9±1,1	22,5±0,3
Галитовые НСС						
1	0,08±0,01	117±9,9	105±8,4	29,9±2,0	22,0±0,6	18,6±0,6
2	0,07±0,02	103±5,2	113±4,9	21,2±0,4	21,5±1,0	20,3±0,4
3	0,09±0,04	108±4,7	168±12,0	20,6±0,4	30,0±0,4	22,1±0,3
4	0,07±0,01	245±16,6	143±12,5	18,2±0,6	18,5±0,6	18,7±0,6
Среднее	0,08±0,01*	143±4,2*	132±7,8*	22,5±1,1	23,0±0,9*	19,9±0,3

Примечание: Показатели представлены в виде среднего арифметического и его ошибки (M±m) по 6 значениям. * – достоверное отличие от сильвинитовых сооружений, p<0,05.

Таблица 2

Физические параметры внутренней среды НСС в процессе эксплуатации (M±m)

Показатели	Сильвинитовые НСС		Галитовые НСС	
	0-3 лет	3 года и более	0-3 лет	3 года и более
Радиационный фон, мкЗв/час	0,20±0,02	0,18±0,01*	0,08±0,01	0,08±0,01
Легкие отрицательные ионы, ион/см ³	1129,7±75,1	958,2±147,8*	110,0±9,4	176,3±68,7*
Легкие положительные ионы, ион/см ³	405,6±130,9	442,0±114,2	109,2±5,9	155,4±17,1*
Температура воздуха, °С	21,9±1,4	20,6±2,9	25,6±6,2	19,4±1,2
Относительная влажность воздуха, %	37,3±4,5	36,5±7,2	21,8±0,3	24,3±8,2
Температура ограждений, °С	23,0±1,0	22,0±2,5	19,4±1,2	20,4±2,4

Примечание: Показатели представлены в виде среднего арифметического и его ошибки (M±m) по 6 значениям. * – достоверное отличие от срока эксплуатации 0–3 лет, p<0,05.

но выше в сооружениях со сроком эксплуатации от 0 до 3 лет по сравнению с палатами со сроком эксплуатации более 3-х лет ($p<0,05$). С увеличением срока функционирования сильвинитовых палат снижались средние показатели радиационного фона с $0,20\pm0,02$ до $0,18\pm0,01$ мкЗв/ч. Содержание легких отрицательных аэроионов в воздухе сильвинитовых палат со сроком эксплуатации до 3 лет было достоверно выше по сравнению с сооружениями из калийных солей, эксплуатировавшихся более 3 лет: $1129,7\pm75,1$ ион/см³ и $958,2\pm147,8$ ион/см³ соответственно ($p<0,05$). При этом концентрация легких положительных аэроионов повышалась с

течением срока эксплуатации. В галитовых соляных сооружениях наблюдалась несколько другая тенденция – увеличение как легких положительных, так и отрицательных ионов.

Бактериологическими исследованиями установлено, что абиотические соляные поверхности всех сооружений были загрязнены микроорганизмами [10]. Количество положительных проб варьировалось от 20% до 100%, в среднем составив 76,1%, при этом выявлены статистически значимые различия между сильвинитовыми (86,5%) и галитовыми (47,4%) сооружениями ($p=0,0006$). Численность жизнеспособных бактерий, адгезированных

на поверхностях, в сильвинитовых сооружениях ($4,97E+03 \pm 1,32E+04$ КОЕ/мл/м²) также была выше, чем в галитовых ($1,74E+02 \pm 1,68E+02$ КОЕ/мл/м²). Уровень обсемененности стафилококками в сильвинитовых сооружениях составил 55,8% ($3,11E+02 \pm 2,32E+02$ КОЕ/мл/м²), тогда как в галитовых – 10,5% ($4,00E+00$, только в двух пробах) и различия были статистически значимыми ($p=0,0007$). Методом прямого высева кандиды не были обнаружены ни в одной пробе. Следует отметить, что в помещениях для солетерапии всех типов со сроком эксплуатации до 3 лет количество бактерий ниже, чем со сроком использования палат более 3 лет: $2,87E+02 \pm 3,78E+02$ КОЕ/мл/м² против $4,49E+03 \pm 5,99E+03$ КОЕ/мл/м², соответственно ($p < 0,05$).

Таким образом, сравнительный анализ основных санитарно-гигиенических параметров соляных сооружений выявил определенные различия между сильвинитовыми и галитовыми палатами. Основным лечебным фактором в помещении из сильвинита является аэрионизация, в галокамере – соляной аэрозоль. Бактериологическим методом выявлена высокая выживаемость как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий в условиях повышенной солености. Обнаружена высокая обсемененность поверхностей жизнеспособными стафилококками, включая патогенный *S. aureus*, которые являются возбудителями оппортунистических инфекций, что необходимо учитывать при разработке методов оптимизации факторов внутренней среды НСС. С увеличением срока эксплуатации наземных соляных сильвинитовых сооружений наблюдается снижение интенсивности лечебных факторов внутренней среды и увеличение микробной обсемененности поверхностей НСС. Соблюдение санитарно-гигиенических мероприятий по управлению качеством среды соляных сооружений позволит использовать медицинский объект долговременно и эффективно.

Структура микробных сообществ НСС Пермского края

Микробное разнообразие экосистем природных соляных пещер, рудников, а также промышленных районов солеразработок активно изучается, что, с одной стороны, вызвано необходимостью понимания механизмов длительного выживания бактерий в «не ростовых» высокоминерализованных природных или искусственных системах, с другой – прикладным значением, а именно, возможностью выделения среди представителей галофильных и/или галотолерантных бактерий потенциально перспективных источников биологически активных соединений [18–19, 29]. Благодаря особенностям микроклимата и бактериостатическому эффекту соли количество и видовой состав микроорганизмов в соляных шахтах существенно отличается от других биотопов. В НСС проводится микробиологический мониторинг только воздушной среды, потому как данный показатель наиболее динамичен. Соли обладают угнетающим действием на микроорганизмы, однако выявлена высокая обсемененность воздуха соляных помещений, зависящая от интенсивности и срока их эксплуатации. Показано, что микробная контаминация воздуха во время сеанса солетерапии составляет от 130–200 микроорганизмов на 1 м³ [6]. На абиотических поверхностях этих сооружений может формироваться специфический микробиоценоз, включающий патогенные/условно-патогенные бактерии, имеющие антропогенное происхождение.

В связи с вышеизложенным следующим этапом исследования стало изучение структуры микробных сообществ, сформированных на соляных абиотических поверхностях НСС [10]. В исследование были включены те же НСС, в которых была проведена гигиеническая оценка. Реконструирование таксономического состава до рода/вида проводили после химического извлечения высших жирных кислот, альдегидов, стероидов и хроматографического разделения пробы методом газовой хроматографии-масс-спектромет-

рии (ГХ-МС) [7] с использованием системы Agilent 6890/5973N («Agilent», США). Результаты анализировали с помощью штатной программы обработки данных и формировали рапорт о реконструированном по биохимическим маркерам составе микробного сообщества.

По данным ГХ-МС, в отличие от метода прямого посева, общее количество микроорганизмов было существенно выше и достоверно не различалось: $1,84E+08 \pm 7,73E+07$ и $1,46E+08 \pm 6,46E+07$ клеток/м² в сильвинитовых и галитовых сооружениях, соответственно. Анализ видового состава позволил определить представителей 18 родов, относящихся к трем крупным филумам *Actinobacteria*, *Firmicutes* и *Proteobacteria* (рис. 2). Актинобактерии (*Actinomyces*, *Corynebacterium*, *Nocardia*, *Propionibacterium*, *Rhodococcus* и др.) были доминирующими в обеих группах: 81,2% в сильвинитовых и 91,1% в галитовых сооружениях. Среди фирмикутов (18,3% vs 8,3%) в сильвинитовых НСС преобладали представители рода *Clostridium* (*C. ramosum*, *C. propionicum*) – 63,8% от об-

щего количества бактерий, тогда как в галитовых их было в два раза меньше – 32,1%. Содержание кокковой микробиоты, напротив, было почти в 3 раза выше в галитовых НСС (21,1%), чем в сильвинитовых (7,4%). Бактерии рода *Staphylococcus* обнаружены во всех соляных сооружениях, представители *Streptococcus* – в семи из десяти. Протеобактерии выявлены почти в 30% проб (их доля в микробном спектре не превышала 0,6% (0,48% vs 0,58%) от всех микроорганизмов) и детектированы маркеры представителей только 4-х таксонов – *Alcaligenes*, *Moraxella*, *Escherichia* и *Campylobacter*. В целом, можно отметить, что в сильвинитовых НСС структура микробного сообщества более разнообразная, чем в галитовых. Это может быть связано с более благоприятными условиями для выживания бактерий, так как соли K⁺ менее токсичны для прокариотов, чем соли Na⁺, а также с более длительным сроком эксплуатации сильвинитовых сооружений.

Таким образом, метод ГХ-МС позволил реконструировать таксономический состав сильвинитовых и галитовых НСС. Идентифицированы представители

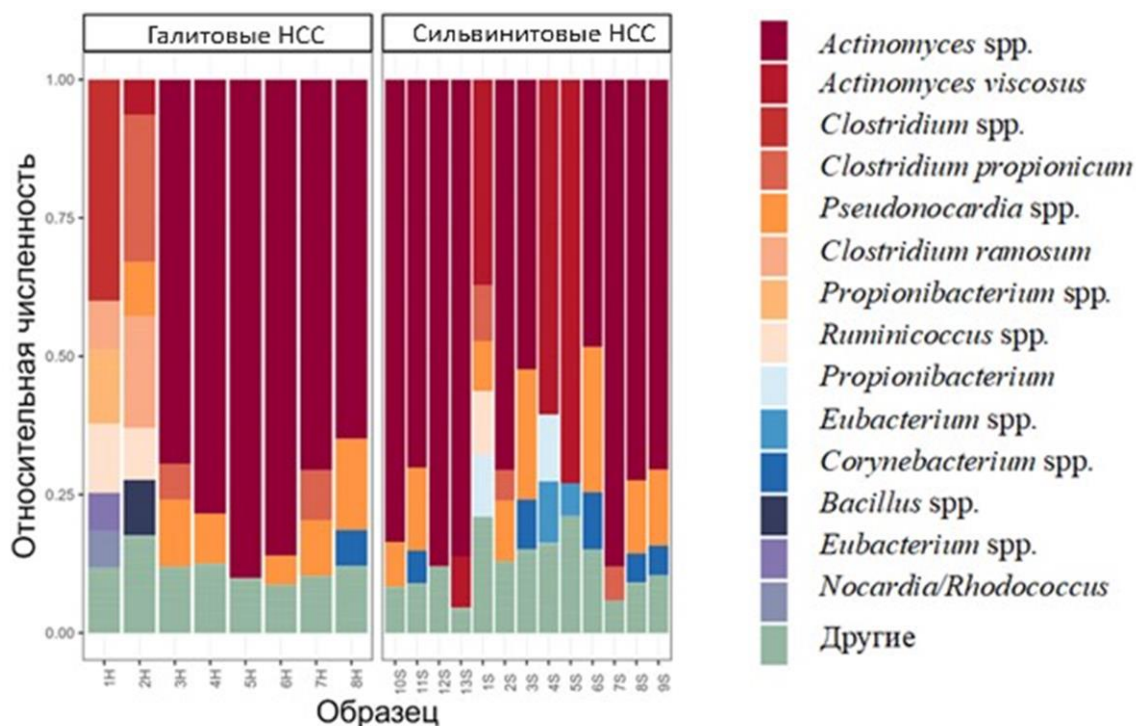


Рис. 2. Таксономическое распределение некоторых представителей в структуре микробных сообществ сильвинитовых (S) и галитовых (H) НСС

18 родов, отнесенные к филумам *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, доли которых не различались в двух группах. Полученные данные о значительной численности представителей *Actinomyces*, обитающих на соляных абиотических поверхностях НСС, позволяют предположить, что они могут быть тем пулом клеток, который «помогает» другим бактериям сохраняться в жизнеспособном состоянии в условиях высокоминерализованной среды. Выявленные количественные и качественные показатели микробиоты соляных сооружений дополняют представления о структуре микробных сообществ в условиях высокой соляной нагрузки и антропогенного влияния. На наш взгляд, большой массив исходных данных о микробной структуре НСС позволит лучше понять распределение микроорганизмов в этой среде обитания и выявить отличительные микробные группы, являющиеся постоянными и транзиторными участниками экосистемы. В медицинском аспекте, бактериологическим методом выявлена высокая выживаемость как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий в условиях повышенной солености. Обнаружена обсемененность поверхностей жизнеспособными стафилококками, включая патогенный *S. aureus*, которые являются возбудителями оппортунистических инфекций, что необходимо учитывать при разработке методов оптимизации факторов внутренней среды НСС.

**Выживаемость бактерий
при моделировании ограждающих
поверхностей сооружений
для солетерапии**

Абиотические поверхности НСС подвержены микробному загрязнению, источниками которого являются верхние дыхательные пути, кожные покровы пациентов и медицинского персонала. Несмотря на то, что соли обладают угнетающим действием на микроорганизмы, длительное сохранение микроорганизмов на абиотических поверхностях соляных со-

оружений возможно, что было показано выше. Наземные сооружения для солетерапии отличаются по составу минералов, имеющих определенные механические свойства [3], и модификации лечебных поверхностей. По данным современной литературы, основные факторы, способствующие прикреплению бактерий – шероховатость и рельеф поверхности, особенно когда характеристики поверхности сопоставимы с их размером [22, 25]. Учитывая разнообразие поверхностей НСС, представлялось важным оценить жизнеспособность микроорганизмов на абиотических поверхностях, идентичных материалу для изготовления соляных физиотерапевтических сооружений [11].

В качестве объектов исследования были взяты референтные штаммы *Staphylococcus aureus* ATCC®25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC®29887, полученные из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ГИСК им. Л.А. Тарасевича (сейчас ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, г. Москва), а также штаммы *S. aureus* и *S. epidermidis* (n=6), изолированные с поверхности соляных сооружений. Гидрофобность поверхности бактериальных клеток оценивали по их относительному распределению между водной фазой и фазой органического растворителя гексдекана (ВАТН-тест) [27].

Выживаемость бактерий оценивали на галите без обработки и после зачистки, сильвините без обработки и после зачистки, сильвинитовой и галитовой крошке. Процентное содержание минералов (NaCl/KCl), определенное путем обработки изображений поверхностей галита и сильвинита с помощью программы, написанной на языке C# в среде Microsoft Visual Studio 2010, составило 88,67/11,33% и 5,68/94,32%. Характеристики структуры поверхности материала представлены на рис. 3. Эксперименты по выживаемости бактерий на соляных поверхностях проводили следующим способом. Биомассу бактерий, выращенных на твердых питательных средах в виде изолированных колоний,

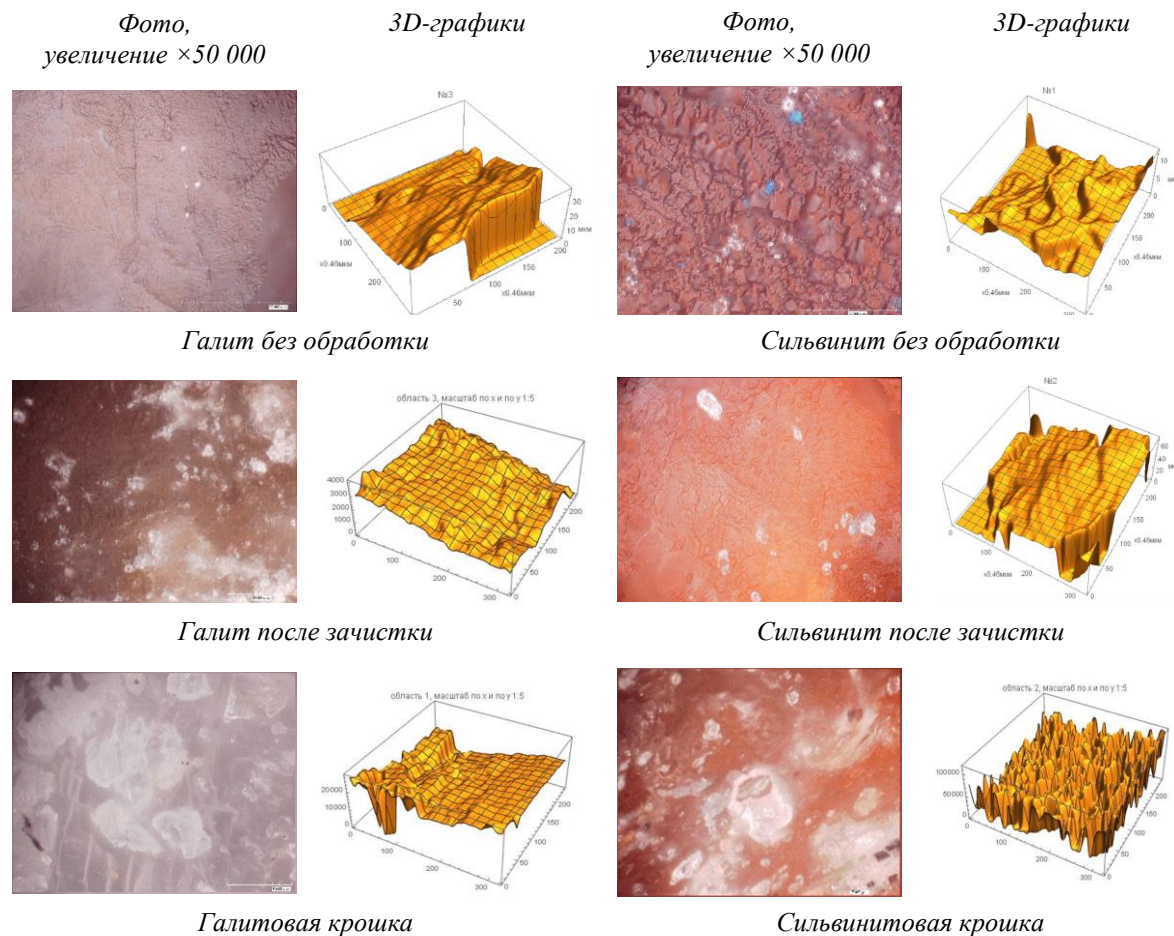


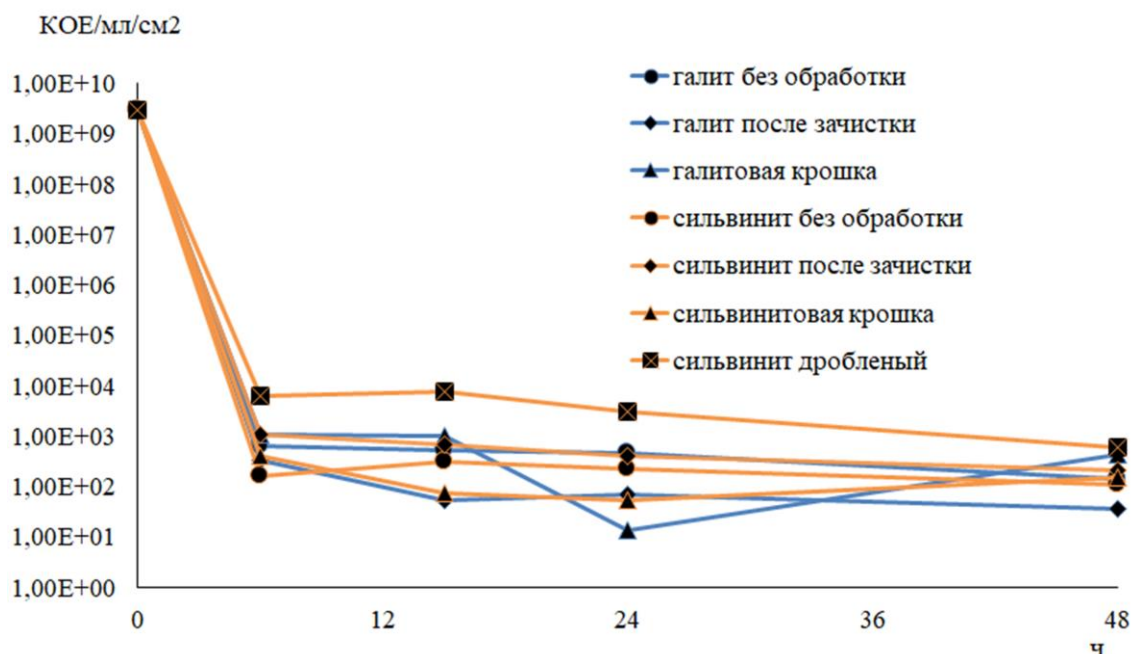
Рис. 3. Фото поверхности (внешний вид) и 3D-изображения рельефа соляных поверхностей (получены с помощью оптического цифрового 3D видео микроскопа Hirox KH 7700 (Япония) с.н.с. Института механики сплошных сред УрО РАН к.ф.- м.н. И.А. Морозовым)

в количестве одной калибровочной бактериологической петли (диаметр 2 мм, емкость 0,005 мл), наносили на соляные поверхности по трафарету (1 см²). Исследуемые материалы помещали в термостат и выдерживали 6, 15, 24 и 48 часов. Жизнеспособность клеток оценивали после высева «сухих смывов» на агаризованную селективную среду (желточно-солевой агар) методом десятичных разведений по числу колониеобразующих единиц (КОЕ/мл/см²). В ходе экспериментальных исследований было установлено, что клетки референтных и выделенных в НСС штаммов стафилококков сохранялись на всех изучаемых поверхностях в течение 48 часов (рис. 4).

Штаммы стафилококков, выделенные из соляных сооружений, оказались более устойчивы к солевой нагрузке, чем референтные, которые сохранялись на поверх-

ности галита и сильвинита даже при технике нанесения в жидкой культуре (данные не представлены). Следует отметить, что уже через 6 часов количество бактерий на соляных поверхностях существенно снижалось до значений 10E+02–10E+03 клеток/мл/см². Затем, через 15 часов, в некоторых вариантах наблюдается небольшой рост числа бактерий, по-видимому, за счет питания субстратами, высвобождающимися из лизированных клеток, а далее в течение двух суток – незначительное падение численности до 10E+02 клеток/мл/см².

Состав и структура соляной поверхности, наряду с другими факторами, могут играть важную роль в выживаемости бактерий и формировании микробиологического пейзажа. Достоверных отличий по числу жизнеспособных бактерий между галитом и сильвинитом «без обработки»/«после зачистки»/«крошка» во все



Вариант	0	6	15	24	48
галит без обработки	2,97E+09± 2,74E+09	6,39E+02± 1,20E+03	5,34E+02± 1,15E+03	4,75E+02± 1,61E+03	1,41E+02± 2,26E+02
галит после зачистки		3,27E+02± 5,47E+02	5,33E+01± 5,01E+01	7,00E+01± 1,53E+02	3,67E+01± 6,12E+01
галитовая крошка		1,06E+03± 2,08E+03	9,90E+02± 2,36E+03	1,33E+01± 2,07E+01	4,30E+02± 5,45E+02
сильвинит без обработки		1,60E+02± 2,96E+02	3,07E+02± 6,29E+02	2,28E+02± 6,45E+02	1,11E+02± 1,25E+02
сильвинит после зачистки		1,07E+03± 2,15E+03	6,81E+02± 1,53E+03	4,11E+02± 9,70E+02	2,14E+02± 4,93E+02
сильвинитовая крошка		4,00E+02± 7,12E+02	7,33E+01± 6,89E+01	5,33E+01± 6,15E+01	1,50E+02± 2,25E+02
сильвинит дробленый		6,47E+02± 1,00E+03	7,50E+02± 1,00E+03	2,00E+02± 1,00E+03	6,11E+02± 1,00E+03

Рис. 4. Количество жизнеспособных клеток стафилококков с учетом вида соляных поверхностей и срока экспозиции

периоды наблюдения не выявлено. Тем не менее, показаны достоверные различия по выживаемости клеток на дробленом сильвините (рис. 5) и других поверхностях из сильвинита и галита при 6- и 15-часовой экспозиции (t -test; $p < 0,05$), разница сохранялась и на срок 24 часа (t -test; $p < 0,05$) для сильвинита и галита «без обработки»/«крошка».

Адаптивные механизмы бактерий позволяют модифицировать поверхность клетки в отношении ее гидрофобности, чтобы обеспечить оптимальное взаимодействие с субстратами. Известно, что увеличение гидрофобности клеточной

стенки бактерий является ключевым фактором для адгезии и формирования биопленки. Гидрофобные клетки адгезируются в большей степени, чем гидрофильные (коэффициент линейной регрессии 0,8) [29]. Гидрофобность клеточной стенки исследованных микроорганизмов существенно варьировалась от 0 до 24,2%, составив в среднем $8,12 \pm 9,6\%$. Выявлена сильная положительная связь между гидрофобностью и числом жизнеспособных клеток, адгезированных на поверхности дробленого сильвинита: $r = 0,829$. Корреляция между суммарным показателем выживаемости (с учетом всех поверхностей) и

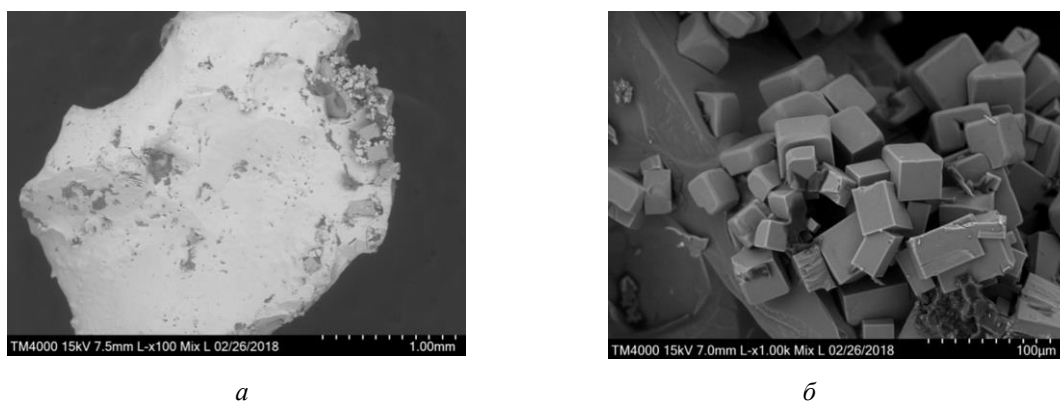


Рис. 5. Изображения структуры поверхности дробленого сильвинита, полученные с помощью электронной микроскопии (Hitachi TM4000Plus, Япония). Масштабная линейка соответствует 1 мм (а) и 100 мкм (б)

гидрофобностью клеточной стенки бактерий составила $r=0,346$. При учете показателей жизнеспособности только при технике посева из колонии, связь была очень сильной ($r=0,955$).

Таким образом, наши исследования свидетельствуют, что референтные штаммы и бактерии, выделенные с поверхности НСС, могут сохраняться на различных типах поверхности галита и сильвинита не менее двух суток, что обусловлено адаптивной модификацией микроорганизмов, в том числе за счет увеличения гидрофобности клеточной стенки, повышающей их способность к выживанию. Микрорельеф поверхности также может иметь значение для колонизации и выживаемости бактерий, поскольку наибольшее количество клеток зафиксировано на сильвините с неровным рельефом поверхности. В целом, результаты моделирования выживаемости бактерий на соляных поверхностях различных типов, свидетельствуют об их устойчивости к высоким концентрациям солей, что ставит вопрос о разработке специальных новых методов обработки ограждений сооружений для спелеотерапии.

**Антибиотикочувствительность
и адаптивные свойства
стафилококков, изолированных
из наземных соляных сооружений**

Интерес к изучению биологических свойств микроорганизмов в условиях высокого засоления среды вызван как необ-

ходимостью расшифровки механизмов их персистенции в высокоминерализованных природных или искусственных системах, так и целесообразностью оптимизации методов поддержания факторов внутренней среды НСС. Стафилококки имеют ряд характеристик, которые позволяют им переживать бактерицидные факторы хозяина и стрессы окружающей среды, в том числе резкие изменения осмотического давления [21, 23]. Фенотипическое разнообразие бактерий рода стафилококков может проявляться и в существенных различиях в устойчивости к солям и ионам тяжелых металлов, и, соответственно, определять большой потенциал их адаптации к стрессу. В настоящем блоке представлены некоторые исследования по данному вопросу [12].

Изолированные в процессе исследования НСС Пермского края 26-штаммов рода *Staphylococcus* были изучены на чувствительность к антибиотикам и солям тяжелых металлов и солеустойчивость. В исследование были взяты штаммы только с индивидуальным генотипом и идентифицированные на основании анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК путем сравнения нуклеотидной последовательности фрагментов с известными типовыми штаммами стафилококков. Распределение выделенных бактерий оказалось следующим: *S. epidermidis* – 42,3%, *S. aureus* – 19,2%, *S. saprophyticus* – 19,2%,

S. simulans – 7,7%, и по одному штамму *S. warneri*, *S. hominis* и *S. cohnii* subsp. *cohnii* – по 3,8% (рис. 6, а).

Гемолитическую активность оценивали по появлению зоны просветления вокруг колонии, выросшей на 5% кровяном агаре через 24 часа инкубации культур при 37°C. Гемолитическими оказались девять (34,6%) культур, при этом только в двух случаях способность к гемолизу выявлена у *S. aureus* (рис. 6, б).

Определение чувствительности штаммов к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтон (Difco, Франция). В работе были использованы стандартные диски с антибиотиками (мкг): оксациллин (1), ванкомицин (30), эритромицин (15), азитромицин (15), клиндамицин (2), ципрофлоксацин (5), левофлоксацин (5), гентамицин (10) и тетрациклин (30) (ООО НИЦФ, Россия). Исследование чувствительности штаммов стафилококков к антибиотикам показало, что большинство культур были устойчивы к макролидам – эритромицину и азитромицину (n=16; 61,5%). Маркером чувствительности стафилококков к β-лактамам считается оксациллин, к которому были устойчивы три культуры коагулазоотрицательных стафилококков (КОС), а одна из них, *S. saprophyticus*, была резистентна еще к ципрофлоксацину и тетрациклину. К ванкомицину, клиндамицину, аминогликозидам (амикацину и гентамицину), левофлоксацину были чувствительны все исследованные штаммы.

Для определения влияния солей на стафилококки оценивали минимальную подавляющую концентрацию (МПК) и минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) растворов NaCl и KCl. МПК устанавливали методом серийных разведений, используя концентрации от 1 до 5 М с шагом 0,5 М. Минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) определяли высевами на твердую питательную среду из лунок соответствующих разведений. Влияние солей на рост бактерий оценивали с помощью оптической плотности культуры (ед. ОП₆₀₀) через 24 часа культивирования в присутствии 1,0 и 2,0 М NaCl и KCl. Контролем служили лунки с культурами *Staphylococcus* в LB-бульоне.

В экспериментах по изучению влияния хлоридов натрия и калия на рост бактерий установлено, что показатель МПК солей в отношении штаммов стафилококков в большинстве случаев составлял 3,5 М: в присутствии 3 М NaCl рост наблюдался у двадцати одного (80,8%) штамма, 3 М KCl – у двадцати пяти (96,2%) (рис. 7). При этом МПК 4 М NaCl была выявлена только в четырех случаях (15,4%), тогда как для KCl – в двенадцати (46,2%) (*F*-test; *p*<0,05). Следует отметить, что при 3,5 М NaCl росли четыре культуры КОС, при 3,5 М KCl – двенадцать культур, одна из которых *S. aureus*. Закономерно, исследуемые штаммы были более устойчивы к хлориду калия, чем натрия (*W*-test; *p*=0,003), при этом установлена умеренная связь между показателями МПК для этих солей (*R*_s=0,51; *p*<0,05) (рис. 8).

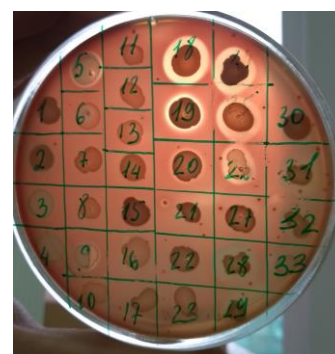
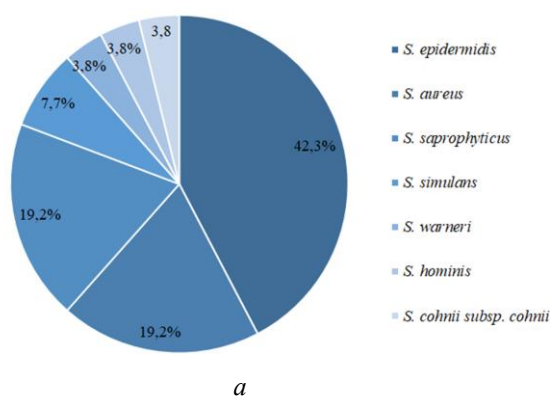


Рис. 6. Видовое распределение рода *Staphylococcus* (а) и оценка гемолитической активности штаммов (б)



Рис. 7. Устойчивость стафилококков, изолированных из НСС, к солям Na и K, а также к солям тяжелых металлов

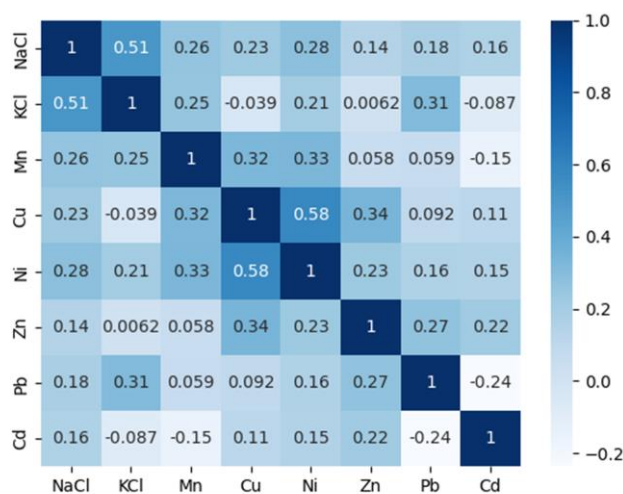


Рис. 8. Тепловая карта, отражающая силу связи между устойчивостью к солям тяжелых металлов и солям натрия и калия. Цветовое значение каждой ячейки соответствует коэффициенту корреляции Спирмена и пропорционально силе корреляции

В то же время МБК NaCl и KCl определить не удалось, поскольку максимально возможные для растворов этих солей концентрации (5 М) не оказывали бактерицидного действия на большую часть штаммов стафилококков. Аналогично результатам, полученным в общей выборке, выявлены достоверные отличия между показателями МПК NaCl и KCl в группах штаммов чувствительных (W -test; $p=0,027$) и устойчивых ($p=0,043$) к макролидам стафилококков. Корреляционный анализ показал умеренную связь между показателями МПК NaCl и KCl как в I ($R_s=0,448$), так и во II ($R_s=0,661$) группе бактерий. Оказалось, что МПК NaCl более 4 М обнаруживалась по отношению к 10% штаммов, чувствительных к макролидам. Среди устойчивых таких штаммов было почти в 2 раза больше. В то же время 4 М KCl выдерживали 70% чувствительных культур, что существенно больше, чем во II группе, но разница была статистически недостоверна в обоих случаях.

Устойчивость (толерантность) стафилококков к тяжелым металлам оценивали по МПК, которую определяли методом двукратных серийных разведений в микропланшетах. Культуры выращивали при 35 ± 2 °C на LB-бульоне в присутствии солей марганца ($MnSO_4$), меди ($CuSO_4$), никеля ($NiSO_4$), цинка ($ZnSO_4$) и кадмия ($CdCl_2$) в диапазоне концентраций 0,05–100 мМ. Изучение устойчивости бактерий к тяжелым металлам показало, что показатели МПК их солей варьировались в широком диапазоне концентраций (от 0,05 до 25,0 мМ). Толерантность к солям тяжелых металлов уменьшалась в ряду: $Mn \geq Cu > Ni > Zn > Cd$. Наименьшее ингибирующее действие на бактерии оказывали Mn, Cu и Ni – более 95% штаммов росли в присутствии 1,6 мМ солей этих металлов в среде. Интересно, что Zn в данной концентрации подавлял рост 100% штаммов. Как и следовало ожидать, наиболее токсичным оказался Cd: только два (7,7%) штамма росли в присутствии его соли в концентрации выше 0,2 мМ, в то время как у пятнадцати (57,7%) куль-

тур рост ингибировался уже при 50 мкМ. Между показателями МПК Mn/Cu, Mn/Ni, Cu/Ni и Zn/Cu выявлена умеренная положительная корреляция ($R_s=0,32$; $0,33$; $0,58$ и $0,34$ соответственно; $p<0,05$) (рис. 8). Оказалось, что среди чувствительных к макролидам штаммов чаще, чем среди устойчивых, встречались культуры, толерантные к высоким концентрациям Mn (50% против 6,3%), однако реже – устойчивые к Cd (20% против 43,8%).

Таким образом, изучение некоторых биологических свойств представителей различных видов стафилококков, выделенных с поверхности НСС, показало, что несмотря на ингибирующее действие солей натрия и калия (в меньшей степени) на рост бактерий в жидкой среде, МБК для большинства культур были более 5 М. Штаммы *S. aureus* лучше росли в присутствии солей натрия, по сравнению с КОС. Из общего количества штаммов более 95% были резистентны к солям пяти тяжелых металлов в концентрации 200 мкМ. Многие культуры оказались устойчивыми к макролидам, и три – к оксациллину, треть штаммов были гемолитическими, что, возможно, указывает на их антропогенное происхождение. Резистентные к макролидам культуры демонстрировали большую толерантность к соли Cd, тогда как антибиотикочувствительные – к высоким концентрациям Mn.

Фенотипическое разнообразие и высокий адаптационный потенциал бактерий рода *Staphylococcus* способствуют их сохранению в окружающей среде под действием неблагоприятных условий, в том числе при росте в высокоминерализованных средах. Адаптивный метаболизм стафилококков является эффективной стратегией, ориентированной на выживание и обеспечение конкурентоспособности в ряде экстремальных ситуаций, при этом некоторые эффекты сходны для всех бактерий, другие – являются уникальными для конкретного штамма. Проявление дифференциальной чувствительности стафилококков к изученным факторам может дать дополни-

тельную информацию, необходимую для оценки экологического потенциала этих бактерий, их распространения и решения проблемы борьбы со стафилококковыми инфекциями.

Заключение

Важнейшей задачей современной профилактической медицины является поиск и применение немедикаментозных способов коррекции функциональных изменений физиологических систем человека. К таким методам можно отнести солелечение, которая широко применяется в профилактике и комплексном лечении различных заболеваний. Для данных целей используются два вида сооружений: сильвинитовые и галитовые. В период проведения сеансов солелечения происходят изменения соотношения лечебных факторов внутренней среды соляных устройств, воздух подвержен микробному

загрязнению, источниками которого являются медицинский персонал и пациенты. Интенсивная эксплуатация соляных сооружений формирует накопление антропофильного микробного пула с измененными свойствами, что способствует сохранению бактерий и их персистенции в условиях повышенной соляной нагрузки. Полученные данные позволяют констатировать, что различные конструкции сооружений, их оборудование и способы подготовки внутренней среды, а также интенсивная эксплуатация определяют необходимость проведения комплексных исследований по оценке гигиенических и санитарно-микробиологических условий лечения пациентов в соляных сооружениях для разработки мероприятий по эффективному обеззараживанию различных поверхностей помещений и оборудования с сохранением лечебных факторов.

Библиографический список

1. Аверченко И.Ф., Богданович А.С., Пономарев В.А. Спелеотерапия в наземных спелеоклиматолечебницах // Медицинская реабилитация и санаторно-курортное лечение: материалы Республиканской научно-практической конференции с международным участием. – Гродно, 2017. – С. 12–19.
2. Агаджанян Н.А., Дорохов Е.В., Жоголева О.А., Есауленко И.Э., Яковлев В.Н. Экологическая обусловленность применения спелеоклиматотерапии как метода профилактики бронхолегочных заболеваний // Вестник РУДН. Сер. Медицина. – 2008. – № 4. – С. 57–62.
3. Аптуков В.Н., Скачков А.П. Оценка микромеханических характеристик каменной соли, сильвинита и карналлита на установке NANOTEST-600 // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2011. – Т. 2. – № 4. – С. 372–374.
4. Баранников В.Г., Черешнев В.А., Красноштейн А.Е., Туев А.В. Спелеотерапия в калийном руднике. – Екатеринбург: Изд-во УрОРАН, 1996. – 173 с.
5. Богданович А.С. Мировая практика использования метода спелеотерапии // Рудник будущего. – 2010. – № 4. – С. 137–140.
6. Верихова Л.А. Спелеотерапия в России. Теория и практика лечения хронических заболеваний респираторного тракта в подземной сильвинитовой спелеолечебнице и наземных сильвинитовых спелеоклиматических камерах // Перм. гос. мед. акад.: Перм. гос. техн. ун-т, 2000. – 231 с.
7. Верховцева Н.В., Оситов Г.А. Метод газовой хроматографии–масс-спектрометрии в изучении микробных сообществ почв агроценоза // Проблемы агрохимии и экологии. – 2008. – № 1. – С. 51–54.
8. Делендик Р.И., Чекан В.Л. Становление и развитие спелеотерапии в мировой практике // Медицинский журнал. – 2021. – № 4. – С. 12–16 <https://doi.org/10.51922/1818-426X.2021.4.12>.
9. Жарин В.А., Метельский С.М., Решетникова Н.В., Федорович С.В. Спелеотерапия: прошлое и настоящее // Военная медицина. – 2013. – № 1. – С. 48–53.
10. Кузнецова М.В., Маммаева М.Г., Кириченко Л.В., Шишкин М.А., Демаков В.А. Структура микробных сообществ наземных соляных сооружений Пермского края // Вестник ПГУ. Серия: Биология. – 2020. – Вып. 2. – С. 120–127 <https://doi.org/10.17072/1994-9952-2020-2-120-127>.
11. Кузнецова М.В., Маммаева М.Г., Баранников В.Г., Кириченко Л.В. Выживаемость бактерий при моделировании ограждающих поверхностей сооружений для солелечения // Гигиена и санитария. – 2019. – Т. 98. – № 9. – С. 943–948 <https://doi.org/10.18821/0016-9900-2019-98-9-943-948>.
12. Кузнецова М.В., Маммаева М.Г., Нестерова Л.Ю., Кириченко Л.В., Демаков В.А. Антибиотикочувствительность и адаптивные свойства стафилококков, изолированных из

- наземных соляных сооружений // Астраханский медицинский журнал. – 2022. – Т. 17. – № 2. – С. 64–76 <https://doi.org/10.48612/agmu/2022.17.2>.
13. Николаева Е.А., Тишкевич Г.И., Косяченко Г.Е. Анализ гигиенических характеристик спелеосреды наземных гало- и спелеоклиматических камер // Здоровье и окружающая среда. – 2016. – №26. – С. 185–187.
 14. Рязанова Е.А., Баранников В.Г., Кириченко Л.В., Дементьев С.В., Варанкина С.А., Хохрякова В.П. Сравнительная гигиеническая характеристика современных методов солелечения // Пермский медицинский журнал. – 2014. – Т. 3. – № 31. – С. 65–69 <https://doi.org/10.17816/pmj31365-69>.
 15. Селиванова С.А., Кириченко Л.В., Баранников В.Г., Хохрякова В.П. Гигиеническая оценка условий внутренней среды компактных сильвинитовых сооружений в процессе эксплуатации // Санитарный врач. – 2019. – № 3. – С. 51–55.
 16. Федотова М.Ю., Горовиц Э.С., Баранников В.Г. Особенности микрофлоры воздушной среды соляных микроклиматических палат // Пермский медицинский журнал. – 2005. – № 3. – С. 118–121.
 17. Черешнев В.А., Баранников В.Г., Кириченко Л.В., Дементьев С.В. Физиолого-гигиеническая концепция спелео-солелечения. – Екатеринбург: Изд-во РИО УрО РАН, 2013. – 183 с.
 18. Ястребова О.В., Ананьина Л.Н., Пастухова Е.С., Плотникова Е.Г. Разнообразие бактерий, выделенных из района разработок месторождения калийных солей верхнекамья // Вестник Пермского университета. – 2009. – № 10. – Вып. 36. – С. 124–129.
 19. Diaz-Cardenas C., Cantillo A., Rojas L.Y., Sandoval T., Fiorentino S., Robles J. Microbial diversity of saline environments: searching for cytotoxic activities // AMB Expr. – 2017. – Vol. 1. – № 7. – P. 223. <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0527-6>.
 20. Frączek K., Gorny R.L. Microbial air quality at Szczawnica sanatorium, Poland // Ann. Agric. Environ. Med. – 2011. – Vol. 18 – № 1. – P. 63–71.
 21. Garzoni C., Kelley W.L. Staphylococcus aureus: new evidence for intracellular persistence // Trends Microbiol. – 2009. – Vol. 17. – № 2. – P. 59–65 <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.11.005>.
 22. Hočevar M., Jenko M., Godec M., Drobne D. An overview of the influence of stainless-steel surface properties on bacterial adhesion // Materials and technology. – 2014. – Vol. 48. – № 5. – P. 609–617.
 23. Morikawa K., Ohniwa R.L., Ohta T., Tanaka Y., Takeyasu K., Msadek T. Adaptation beyond the Stress Response: Cell Structure Dynamics and Population Heterogeneity in Staphylococcus aureus // Microbs. Environ. – 2010. – Vol. 25. – № 2. – P. 75–82 <https://doi.org/10.1264/j sme2.me10116>.
 24. Pachalska M., Pachalski A., Schmidt-Pospula M. Profesor Mieczyslaw Skulimowski: in search of the roots of rehabilitation in Cracow // Ortop. Traumatol. Rehabil. – 2002. – Vol. 4. – № 1. – P. 101–114.
 25. Quirynen M., Bollen C.M. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man // J. Clin. Periodontol. – 1995. – № 22. – P. 1–14 <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1995.tb01765.x>.
 26. Rashleigh R., Smith S.M., Roberts N.J. A review of halotherapy for chronic obstructive pulmonary disease // International Journal of COPD. – 2014. – № 9. – P. 239–246 <https://doi.org/10.2147/COPD.S57511>.
 27. Rosenberg M., Gutnick D., Rosenberg E. Adherence of bacteria to hydrocarbons: A simple method for measuring cell surface hydrophobicity // FEMS Microbiology Letters. – 1980. – № 9. – P. 29–33 <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1980.tb05599.x>.
 28. Simionca I. Speleotherapy development in Romania on the world context and perspectives for use of some salt mines and karst caves for speleotherapeutic and balneoclimatic tourism purposes // Balneo Research Journal. – 2013. – Vol. 4. – № 3. – P. 113–139. <https://doi.org/10.12680/balneo.2013.1052>.
 29. Van Loosdrecht M.C.M., Lyklema J., Norghe W., Schraa G., Zehnder A.J. Electrophoretic mobility and hydrophobicity as a measure to predict the initial steps of bacterial adhesion // Appl. Environ. Microbiol. – 1987. – Vol. 53. – № 8. – P. 1898–1901 <https://doi.org/10.1128/aem.53.8.1898-1901.1987>.
 30. Vladeva E. Halotherapy – an alternative method for the treatment of respiratory diseases // Heart-Lung (Varna) – 2015. – Vol. 1-2. – №21. – P. 31–35 <https://doi.org/10.14748/hl.v21i1-2.5050>.
 31. Zajac J., Bojar I., Helbin J., Kolarzyk E., Owoc A. Salt caves as simulation of natural environment and significance of halotherapy // Annals of agricultural and environmental medicine. – 2014. – Vol. 1. – № 21. – P. 124–127 <https://doi.org/10.1007/s00792-014-0681-6>.

**ABOVE-GROUND SALT PHYSIOTHERAPEUTIC FACILITIES:
SANITARY-HYGIENIC AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION**

Kuznetsova M.V.^{1,2}, Маммаева М.Г.³, Kirichenko L.V.²

¹*Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS*

²*Academician Ye.A. Vagner Perm State Medical University*

³*Federal Medical Institution «Center of Hygiene and Epidemiology in the Udmurt Republic»*

For citation:

Kuznetsova M.V., Маммаева М.Г., Kirichenko L.V. Above-ground salt physiotherapeutic facilities: sanitary-hygienic and microbiological evaluation // Perm Federal Research Center Journal. – 2024. – № 2. – P. 15–32. <https://doi.org/10.7242/2658-705X/2024.2.2>

The paper highlights the issues of the development of salt therapy, provides an overview of the results of microbiological and sanitary-hygienic studies conducted in situ in surface salt facilities (NSS) of the Perm Territory, as well as in vitro studies of the survival of bacteria of the genus *Staphylococcus* in modeling the enclosing surfaces of structures for salt therapy. A comparative analysis of the main hygienic parameters of salt facilities revealed differences between silvinit and halite chambers, showed the dependence of the intensity of therapeutic factors of the internal environment on the service life and compliance with sanitary and hygienic measures. The diversity of microbial communities of terrestrial salt facilities has been studied by gas chromatography-mass spectrometry. The dominant representation of *Actinomyces* living on salt abiotic surfaces of the NSS suggests that they are a pool of cells that "preserve" other bacteria in a viable state in a highly mineralized environment. The revealed quantitative and qualitative indicators of the microbiota of salt facilities complement the understanding of the structure of microbial communities under conditions of high salt load and anthropogenic influence, including the distribution of microorganisms – the presence of distinctive groups consisting of permanent and transient ecosystem participants. The study of the biological properties of staphylococci isolated from NSS revealed a high percentage of macrolide-resistant strains and hemolytic cultures, which indicates their anthropogenic origin. The high tolerance of crops to sodium and potassium salts, as well as to heavy metal salts, has been shown to differ among representatives of different species and macrolide-sensitive/resistant crops. The manifestation of the differential sensitivity of staphylococci to the studied factors may provide additional information necessary to assess the ecological potential of these bacteria, their spread and solve the problem of combating staphylococcal infections. The obtained data on the survival of bacteria on salt surfaces of various types, their resistance to high concentrations of salts raises the question of special methods of processing fences of structures for salt therapy.

Keywords: surface salt facilities (NSS), hygienic factors of the internal environment, bacterial contamination, Staphylococcus, survival, resistance to antibiotics and heavy metal salts.

Сведения об авторах

Кузнецова Марина Валентиновна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН («ИЭГМ РАН»), 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13, профессор кафедры микробиологии и вирусологии, Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера (ПГМУ), 614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26; e-mail: mar@iegmu.ru

Маммаева Марьям Гасангусейновна, врач по общей гигиене, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Удмуртской Республике», 426033, г. Ижевск, ул. Кирова, д. 46; e-mail: mammaeva.mg@yandex.ru

Кириченко Лариса Викторовна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гигиены медико-профилактического факультета, ПГМУ; e-mail: lkv-7@yandex.ru

Материал поступил в редакцию 07.05.2024 г.